

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Muhamadiyah Malang. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan April 2018-Januari 2019.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, kompor, talenan, timbangan analitik (Pioneer Ohaus PA413), seperangkat alat kaca (*glassware* IWAKI PYREX), *water bath* (Genist tipe GTW-001), corong plastik, baskom, timbangan digital, panci, *chopper*, termometer, sendok, oven listrik (Denpoo), penggiling adonan, garpu, loyang, botol timbang, oven tipe (WTC binder 7200 tipe E53 No 89749), spatula besi, pinset, desikator, *color reader* (CR-10 Konica Minolta, pipet ukur, pipet *filler*, rak tabung, *tube*, *sentrifuge* (PLC series tipe Lab 08), vortex (tipe M37610-33 Barnstead), *texture analyzer* (Shimadzu tipe EZ-SX), seperangkat alat titrasi, seperangkat alat destruksi lemari asam, labu *kjedahl*, *hot plate* (Barnstead Thermolyne Cimarec 2), sarung tangan, botol kaca, gunting, *freezer*, kulkas, kuvet, spektrofotometer (UV-Vis Genesys 20), kertas roti, plastik klip, karet gelang, aluminium foil, kertas saring, lakban, plastik *wrap*, kapas, tissue, plastik PP, kertas label, dan kamera.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam pembuatan *crackers* adalah bunga telang ungu segar yang didapat dari petani di Desa Badas, Pare, Kediri (Gambar 3). Umbi bit yang diperoleh dari Pasar Karangploso Malang dengan bentuk yang

bulat, kulit buah masih keras, masih terdapat batang daun, dan berat ± 150 g (Gambar 1), tepung terigu protein rendah (Kunci Biru), tepung gula, margarin, soda kue, ragi, garam, air, dan susu skim.

Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk analisa *crackers* adalah asam sitrat, akuades, etanol, serbuk DPPH (2,2-diphenyl-1 picrylhydrazine), katalisator, H_2SO_4 , asam borat, NaOH 0,1 N, HCl 37%, methanol 70%, KCl, dan Na asetat yang diperoleh dari Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan UMM.

3.3 Metodologi Penelitian

Penelitian kali ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial yang dilakukan dua faktor dengan 3 kali ulangan. Faktor I adalah perbandingan dari konsentrasi penambahan *puree* bit dan tepung terigu dengan 3 level (10% : 90% ; 20% : 80% ; 30% ; 70%) dan faktor II adalah konsentrasi ekstrak bunga telang dengan 3 level (0 ml, 5 ml, dan 10 ml). Penelitian ini dilakukan dalam 3 proses, yaitu proses pengukusan umbi bit yang akan didapatkan *puree* bit, proses ekstraksi pigmen bunga telang dan aplikasi pada produk *crackers*. Rincian perlakuannya sebagai berikut:

Faktor I: konsentrasi *puree* bit : tepung terigu

A1 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (10% : 90%)

A2 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (20% : 80%)

A3 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (30% : 70%)

Faktor II: Konsentrasi ekstrak bunga telang

T0 : Konsentrasi ekstrak bunga telang 0 ml

T1 : Konsentrasi ekstrak bunga telang 5 ml

T2 : Konsentrasi ekstrak bunga telang 10 ml

Tabel 1. Tabel Matriks Rancangan Percobaan

	T0	T1	T2
A1	A1T0	A1T1	A1T2
A2	A2T0	A2T1	A2T2
A3	A3T0	A3T1	A3T2

Keterangan :

A1T0 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (10% : 90%), konsentrasi ekstrak bunga telang 0 ml

A1T1 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (10% : 90%), konsentrasi ekstrak bunga telang 5 ml

A1T2 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (10% : 90%), konsentrasi ekstrak bunga telang 10 ml

A2T0 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (20% : 80%), konsentrasi ekstrak bunga telang 0 ml

A2T1 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (20% : 80%), konsentrasi ekstrak bunga telang 5 ml

A2T2 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (20% : 80%), konsentrasi ekstrak bunga telang 10 ml

A3T0 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (30% : 70%), konsentrasi ekstrak bunga telang 0 ml

A3T1 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (30% : 70%), konsentrasi ekstrak bunga telang 5 ml

A3T2 : perbandingan *puree* bit dan tepung terigu (30% : 70%), konsentrasi ekstrak bunga telang 10 ml

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian terdiri dari 3 tiga proses, proses pertama adalah proses pengukusan umbi bit merah, proses kedua adalah ekstraksi pigmen bunga telang dan ketiga adalah aplikasi penambahan umbi bit merah dan ekstrak bunga telang pada *crackers*. *Crackers* yang dihasilkan dilakukan analisis antara lain kadar air, kadar protein, aktivitas antioksidan, antosianin, warna, tekstur dan uji organoleptik yang meliputi bentuk, warna, rasa, dan tekstur.

3.4.1 Proses Pembuatan *Puree* Bit Merah

Proses preparasi dan pendahuluan umbi bit pembuatan *puree* dimulai dari pemisahan buah bit dengan akar dan daunnya (*trimming*) kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan tanah yang masih menempel pada permukaan kulit bit, kemudian dikupas tipis agar tidak terlalu banyak membuang daging umbi bit. Selanjutnya dipotong untuk mempercepat proses pematangan selama pengukusan, proses pengukusan dilakukan selama ± 10 menit. Bit yang telah dikukus kemudian dihaluskan dengan menggunakan *chopper*, lama penghalusan ± 1 menit.

3.4.2 Proses Ekstraksi Pigmen Bunga Telang

Proses ekstraksi bunga telang dilakukan dengan proses sortir dan dibersihkan kemudian diambil mahkota bunganya. Selanjutnya dilakukan pengecilan ukuran, kemudian dicampurkan dengan akuades dengan penambahan asam sitrat. Proses ekstraksi dilakukan selama ± 20 menit menggunakan suhu 60°C . Hasil ekstraksi selanjutnya disaring dengan kertas saring. Selanjutnya filtrat dimasukkan ke dalam botol kaca dan ditutup aluminium foil.

3.4.3 Proses Pembuatan *Crackers*

Proses pembuatan *crackers* diawali dengan mempersiapkan bahan baku dan penimbangan bahan lainnya seperti hasil kukusan umbi bit sesuai perlakuan, tepung terigu sesuai perlakuan, margarin 10 g, garam 3 g, susu skim 10 g, gula halus 2 g, ragi 2,5 g, air, ekstrak telang sesuai perlakuan dan soda kue 0,5 g. Bahan- bahan yang telah disiapkan dicampurkan satu per satu dan diaduk hingga rata. Setelah itu dilakukan proses fermentasi dan baru kemudian dipipihkan membentuk lembaran. Setelah itu dicetak hingga semua ukurannya seragam. Barulah setelah itu dilakukan pemanggangannya pada oven dengan suhu 120°C (bertahap) selama 25 menit.

3.5 Parameter Penelitian

Parameter penelitian merupakan analisa yang digunakan untuk mengetahui hasil uji coba penelitian. Parameter pengamatan yang dilakukan antara lain uji bahan baku pada umbi bit yaitu kadar air, aktivitas antioksidan, dan antosianin-betasianin. Parameter pengamatan yang dilakukan pada *crackers* yaitu kadar air, kadar protein, aktivitas antioksidan, antosianin-betasianin, analisa wana, tekstur, dan uji organoleptik yang meliputi (bentuk, warna, rasa, dan tekstur).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Analisa Kadar Air Metode Oven (AOAC, 2005)

1. Produk yang telah homogen dan dihaluskan ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dimasukkan ke dalam wadah porselin yang telah diketahui beratnya.
2. Bahan dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 3-5 jam, selanjutnya didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Bahan kemudian dikeringkan lagi dalam oven selama 30 menit, didinginkan dalam desikator dan kemudian ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan.

3. Perhitungan kadar air bahan dilakukan dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat Awal} - \text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100\%$$

3.6.2 Analisa Kadar Protein Metode *Kjedahl* (AOAC, 2005)

1. Sampel ditimbang sebanyak 0,1 g ke dalam labu kjedahl
2. 1 spatula katalisator ($\text{K}_2\text{SO}_4 \cdot \text{HgO}$ 20:1) dan 3 ml H_2SO_4 pekat ditambahkan
3. Sampel didekstruksi selama 4 jam sampai larutan menjadi jernih
4. Larutan dimasukkan ke dalam alat distilasi, membilas dengan akuades 25 ml dalam labu kjedahl dan NaOH 50% sebanyak 10 ml kemudian melakukan distilasi
5. Gas NH_3 ditampung dengan 15 ml H_3BO_3 dalam erlenmeyer
6. Dilakukan titrasi hasil distilasi dengan HCl 0,02 N sampai warna berubah menjadi ungu muda
7. Kadar protein dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar N (\%)} = \frac{(\text{ml HCl} \times \text{N HCl}) \times 14,008}{\text{berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \text{N} \times \text{faktor konversi (6,25)}$$

3.6.3 Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Yue dan Xu, 2008)

Prinsip dari uji DPPH adalah penghilangan warna untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung menjangkau radikal DPPH, yang dilihat dari absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Adapun tahapan analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sebagai berikut:

A. Pembuatan Larutan DPPH 0,25 mM

1. Kebutuhan serbuk DPPH dihitung dengan rumus:

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{massa (g)}}{\text{Mr} \times \text{volume (L)}}$$

2. Serbuk DPPH dilarutkan dengan methanol 70% pada labu uku 50 ml hingga batas tera, dan menghomogenkannya
3. Larutan DPPH disimpan pada kondisi gelap dan tertutup rapat pada kondisi dingin, serta sesegera mungkin untuk digunakan

B. Ekstraksi Bahan Aktif

1. Sampel dihaluskan dengan mortar dan martil.
2. Sampel ditimbang sebanyak 1 gram ke dalam *tube centrifuge*.
3. Larutan methanol 70% ditambahkan sebanyak 9 ml.
4. Sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit.
5. Supernatant dipisahkan untuk uji aktivitas antioksidan.

C. Analisis Aktivitas Antioksidan

1. Supernatant diambil sebanyak 1 ml kedalam tabung reaksi.
2. 2 ml larutan DPPH 0,25 mg ditambahkan dan dihomogenkan.
3. Mulut tabung ditutup dengan *plastic wrap*, dan badan tabung dengan alumunium foil.
4. Sampel disimpan pada kondisi gelap selama 30 menit.
5. Serapan panjang gelombang dibaca dengan spektrofotometer UV Vis pada $\lambda 517$ nm.
6. % inhibisi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

3.6.4 Penentuan Kadar Antosianin Metode pH Differential (AOAC, 2005) dengan Modifikasi

Penetapan antosianin dilakukan dengan metode perbedaan pH yaitu pH 1,0 dan pH 4,5. Pada pH 1,0 antosianin berbentuk senyawa berwarna ovonium dan

pH 4,5 berbentuk karbinol tak berwarna. Hal tersebut dapat dilakukan dengan membuat suatu alikuot larutan antosianin dalam air yaitu pH-nya 1,0 dan 4,5 untuk kemudian diukur absorbansinya.

A. Pembuatan Larutan Buffer pH 1,0 dan pH 4,5

1. Buffer pH 1

Larutan KCl : 0,025 M KCl (1,86 g dalam 980 ml aquades) Untuk membuat buffer pH 1, sebanyak 980 ml larutan KCl 0,025 M ditambahkan dengan 6,3 ml HCl 37%.

2. Buffer pH 4,5

Larutan Na-asetat : 0,4 M larutan Na asetat (54,43 g dalam 960 ml aquades) Untuk membuat buffer pH 4,5, sebanyak 960 ml larutan Natrium Asetat 0,4 M ditambahkan dengan 20 ml HCl 37%.

B. Penentuan Antosianin

1. Sampel dilarutkan dalam pelarut methanol asam dengan perbandingan (1:1) ke dalam *beaker glass*
2. Larutan sampel dihomogenkan dan ditutup seluruh bagian wadah dengan alumunium foil.
3. Dilakukan maserasi sampel pada suhu -23°C selama 1 jam.
4. Dimasukkan sebanyak 1 ml masing-masing ke dalam 2 buah tabung reaksi.
Tabung reaksi pertama ditambahkan dengan larutan buffer pH 1 sebanyak 9 ml dan tabung reaksi kedua ditambahkan larutan buffer pH 4,5 sebanyak 9 ml.
5. Dilakukan *scanning* antosianin dengan rentang gelombang 400 nm – 550 nm pada kedua buffer larutan sampel ekstrak untuk mengetahui panjang gelombang maksimal antosianin yang dimiliki oleh ekstrak.

6. Dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimal dan panjang gelombang 700 nm pada masing-masing sampel dan hasilnya dikalkulasi berdasarkan persamaan berikut:

$$A = (A_{520} - A_{700}) \text{ nilai pH } 4,5 - (A_{520} - A_{700}) \text{ nilai pH } 1$$

$$\text{Kadar antosianin (mg/L)} = \frac{A \times BM \times FP \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Dimana :

ϵ = Koefisien ekstingsi molar

BM = Berat molekul

FP = Faktor pengenceran

l = Lebar kuvet (1 cm)

3.6.5 Analisa Warna (Maryanto,dkk., 2004)

1. Color reader diaktifkan dengan menekan tombol on
2. Diawali pengukuran dengan standarisasi alat menggunakan keramik standar yang memiliki nilai L, a dan b dimana L adalah kecerahan, nilai positif berarti cerah nilai negatif berarti suram, a adalah kemerahan nilai positif berarti merah nilai negatif berarti hijau, b adalah kekuningan nilai positif berarti kuning dan nilai negatif berarti biru
3. Ujung lensa alat ditempelkan pada permukaan sampel yang akan diamati dan mengukur warnanya

3.6.6 Analisa Kekerasan dengan Texture Analyzer

1. Jig dipasang pada lubang alat *Texture Analyzer*.
2. Alat *Texture Analyzer* dinyalakan dan dilakukan kalibrasi alat melalui program Trapesium X
3. Dilakukan *scanning* jarak dan gaya pada sampel

4. Jarak penetrasi sampel diatur setinggi 1,5 mm/s dan penekanan dilakukan sebanyak satu kali
5. Dilakukan uji pada sampel dan mencatat nilai *hardness* dan energi yang terbaca pada alat.

3.6.7 Uji Organoleptik *Hedonic Scale* (Rahayu, 2001)

Uji organoleptik yang dilakukan meliputi bentuk, warna, rasa, tekstur, dan kesukaan. Dalam uji ini panelis diminta mengungkapkan tanggapan pribadinya tentang kesukaan atau sebaliknya ketidaksukaan. Pengujian dilakukan dengan memberikan sampel secara acak. 9 macam sampel yang diminta masing-masing telah diberi kode yang berbeda. Selanjutnya panelis di minta memberikan ulasan terhadap sampel sesuai skala hedonic yang ada.

Pengujian menggunakan uji skala hedonik yang terdiri dari 5 nilai dengan 5 pertanyaan dapat dilihat pada tabel 5.

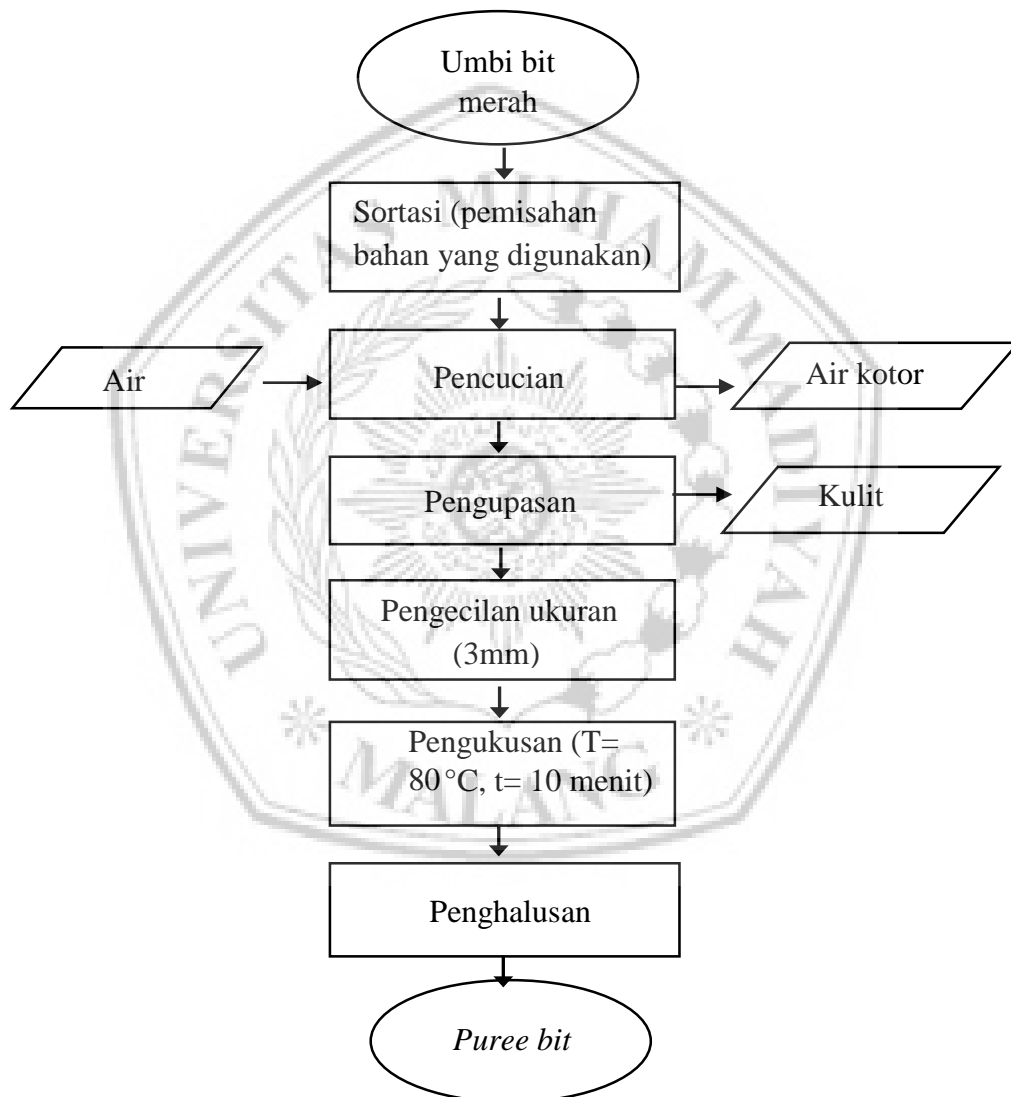
Tabel 2. Skor Organoleptik

Nilai	Bentuk	Warna	Rasa	Tekstur
1	Sangat tidak menarik (permukaan sangat tidak rata)	Sangat tidak menarik	Sangat tidak enak	Sangat tidak renyah
2	Tidak menarik (permukaan tidak rata)	Tidak menarik	Tidak enak	Tidak renyah
3	Cukup menarik (permukaan cukup rata)	Cukup menarik	Cukup enak	Cukup renyah
4	Menarik (permukaan rata)	Menarik	Enak	Renyah
5	Sangat menarik (permukaan sangat rata)	Sangat menarik	Sangat enak	Sangat renyah

3.7 Analisis Data

Pengolahan data pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) pada taraf 5% dan 1%. Selanjutnya bila terjadi perbedaan secara nyata akan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) 5% guna menentukan level/ perlakuan terbaik dari masing-masing.

3.8 Diagram Alir Proses Penelitian

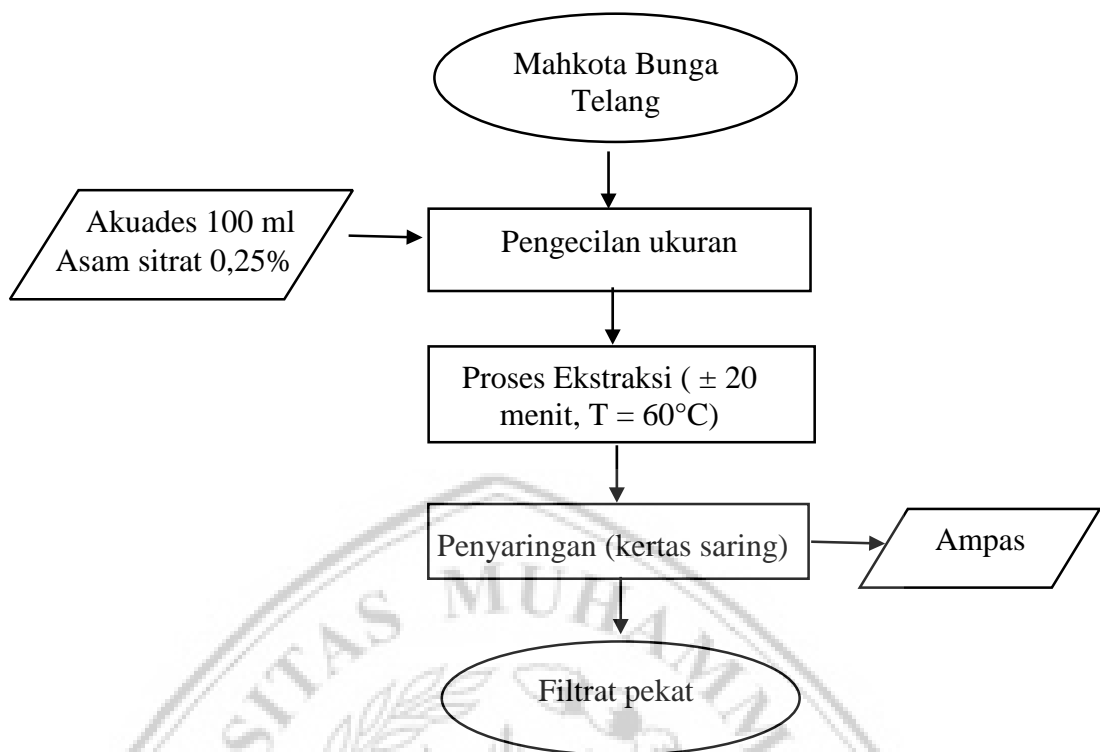


Gambar 1. Diagram Alir Proses Pembuatan *Puree* Bit (Mila, 2014)

Keterangan:

○ =Permulaan dan akhir proses □ =Proses yang dilakukan

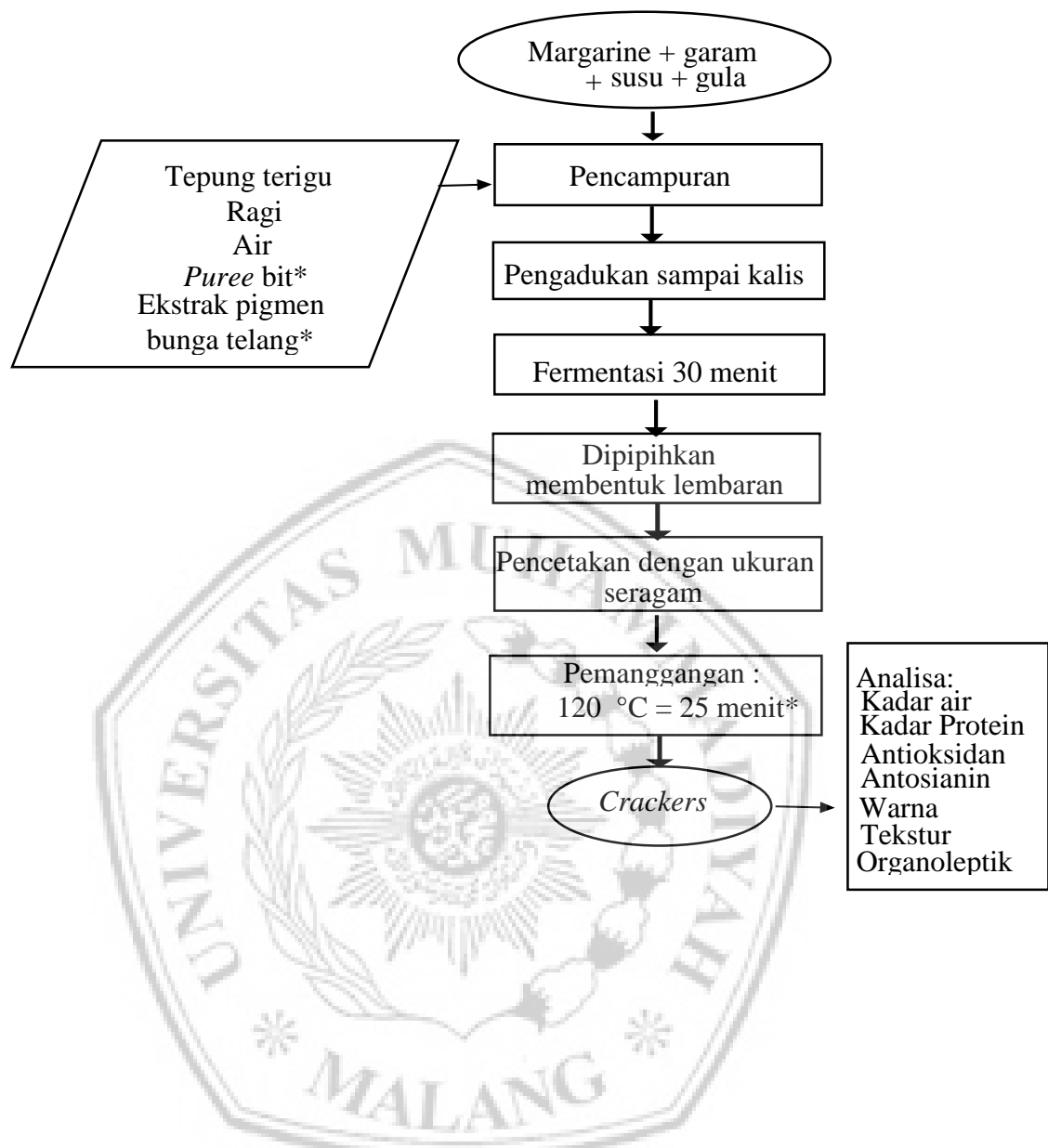
▱ =bahan masuk dan sisa keluar



Gambar 2 . Diagram Alir Ekstraksi Pigmen Bunga Telang (Sa'ati, 2006)

Keterangan:

○ =Permulaan dan akhir proses □ =Proses yang dilakukan
 ▱ =bahan masuk dan sisa keluar

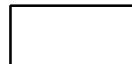


Gambar 3. Diagram Alir Pembuatan *Crackers* (Departemen Perindustrian, 1990 dalam Artama, 2001)

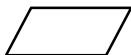
Keterangan:



=Permulaan dan akhir proses



=Proses yang dilakukan



=bahan masuk dan sisa keluar